

大豆ペプチドの抗アレルギー作用に関する研究 —ラット腹腔滲出細胞のケミカルメディエーター放出能に及ぼす影響—

山田耕路^{*1}・柚木真一¹・森 充生¹・砂田洋介¹・野中美智子¹・立花宏文¹・菅野道廣²

¹九州大学農学部 ²熊本県立大学生生活科学部

Studies on Anti-allergic Effect of Soybean Peptides: Effect on Chemical Mediator Releasing Activity of Rat Peritoneal Exudate Cells

Koji YAMADA¹, Shin-ichi YUNOKI¹, Mitsuo MORI¹, Yousuke SUNADA¹, Michiko NONAKA¹, Hirofumi TACHIBANA¹ and Michihiro SUGANO²

¹Faculty of Agriculture, Kyushu University, Fukuoka 812-81

²Faculty of Human Life Sciences, Prefectural University of Kumamoto, Kumamoto 862

ABSTRACT

It has been shown that soybean proteins and peptides interfere with the metabolism of polyunsaturated fatty acids which are related to the occurrence of food allergies. Thus, the effect of soybean proteins and peptides on allergic reaction was examined. At first, rat peritoneal exudate cells were stimulated with calcium ionophore in the presence of these components and found that they suppressed leukotriene B₄ (LTB₄) release from the cells. Then Sprague-Dawley rats were fed purified diets containing safflower or perilla oil at the 10% level and casein or soybean protein at the 20% level for 3 weeks and the effect on chemical mediator releasing activity of rat peritoneal exudate cells was examined. Histamine and LTB₄ releasing activities of the cells were lower in rats fed soy protein than in rats fed casein. These results indicate a possibility that ingestion of soybean protein suppresses allergic response. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **18**, 74-77, 1997.

Key words: soybean protein, polyunsaturated fatty acid, peritoneal exudate cells (PEC), leukotriene B₄ (LTB₄), perilla oil

戦後の食生活の変化はアレルギー疾患の増加に何らかの影響を及ぼしたと考えられている¹⁾。大豆は牛乳、卵とともに三大アレルゲンと呼ばれるが、大豆アレルギーはアレルゲンたん白質のみでなく大豆油も除去食の対象とされることから、脂溶性成分がアレルギーの

発症に関与している可能性がある。したがって、大豆たん白質および大豆油のアレルギー調節機能の解明は大豆アレルギー発症機構の解明に大きく寄与することが期待される。食品中にはアレルゲンたん白質だけでなく、アレルギー応答を促進あるいは抑制するアレルギー調節因子も存在するが²⁾、アレルギー抑制因子の活用による抗アレルギー食品の開発は食品のアレルゲ

*〒812-81 福岡市東区箱崎6-10-1

ン活性の普遍的低減法として大きな期待を集めている。食物アレルギーの発症と多価不飽和脂肪酸 (PUFA) 代謝は密接に関係しているが、大豆たん白質およびその分解物である大豆ペプチドがこの代謝に干渉することが知られている³⁾。そこで、大豆たん白質およびペプチドのアレルギー調節作用を明らかにするため、これら成分のケミカルメディエーター放出調節機能について検討した。

実験方法

松尾ら⁴⁾の方法に従い、8週齢雄 Wistar 系ラットより腹腔渗出細胞 (PEC) を分離し、5 μ M のカルシウムイオノフォア A23187 で刺激することによりロイコトリエン B₄ (LTB₄) を放出させ、高速液体クロマトグラフィー法を用いて測定した。フジプロ-R、フジプロ-CL、ハイニュート-S、ハイニュート-D1 は不二製油製を用い、リン酸緩衝生理食塩水に溶解して細胞懸濁液に添加し、LTB₄ 放出に及ぼす影響を調べた。

摂食実験には4週齢雄 Sprague-Dawley ラットを用い、食餌脂肪としてサフラワー油 (SA) もしくはエゴマ油 (PE) を10%レベルで、食餌たん白質としてカゼイン (CAS) もしくはフジプロ-R (SOY) を20%レベルで添加した純化食を3週間ラットに摂食させ、メディエーター放出能に及ぼす影響について検討した。飼育終了後、これらのラットより PEC を分離し、A23187 刺激により放出されるヒスタミンおよび LTB₄ 量を測定した。ヒスタミンの定量には蛍光法を用いた⁴⁾。また、心臓、肝臓、肺、腎臓、脾臓および睪丸周辺脂肪組織を摘出し、その重量を測定した。PEC のリン脂質組成は池田ら⁵⁾の方法に従い、ガスクロマトグラフィー法により測定した。

結果と考察

まず、大豆たん白質およびペプチドがアレルギー応答に影響を及ぼすか否かを明らかにするため、ラット PEC の LTB₄ 放出に及ぼす影響について検討した (Table 1)。PEC をカゼイン共存下でカルシウムイオノフォア刺激した結果、カゼイン濃度0.001%では LTB₄ 放出量が増加し、0.1%では減少する傾向が認められた。フジプロ-R 共存下でも同様な傾向が認められたが、0.1%添加時の LTB₄ 放出量は有意かつ顕著に減少することが明らかとなった。フジプロ-CL では LTB₄ 放出抑制効果はフジプロ-R より弱い傾向が認められた。大豆ペプチドでは LTB₄ 放出抑制効果は0.001%ですでに認められ、濃度の上昇にともない抑制効果も強くなることが明らかとなったが、0.1%における抑制効果はフジプロ-R には及ばなかった。これらの結果は大豆たん白質の LTB₄ 放出抑制効果は大豆ペプチドによっても発現可能であり、低濃度領域では大豆ペプチドがより効率的に LTB₄ 放出を抑制することを示している。

大豆たん白質およびペプチドが細胞実験において抗アレルギー活性を示すことが明らかとなったので、つぎに摂食実験を行い、生体レベルにおける抗アレルギー効果の発現の有無を検討した。ラット PEC の LTB₄ 放出能は食餌脂肪により強く影響を受け、n-3 系 PUFA に富む PE を与えた場合、n-6 系 PUFA に富む SA を与えた場合と比べ、LTB₄ 放出能が大きく低下することが報告されている²⁾。そこで、食餌脂肪として PE もしくは SA を10%レベルで、食餌たん白質としてカゼインもしくはフジプロ-R を20%レベルで摂食させ、PEC のケミカルメディエーター放出能に及ぼす影響を検討した。

ラットの摂食量においては、これら4群間に有意差は認められなかったが、体重増加は SOY 群で有意に

Table 1. *In vitro* effect of soybean proteins and peptides on LTB₄ release from rat peritoneal exudate cells stimulated with calcium ionophore A23187

Conc. (%)	LTB ₄ releasing activity (ng/10 ⁶ cells)				
	α -Casein	Fujipro-R	Fujipro-CL	Hinute-D1	Hinute-S
0	8.7 $\pm$ 1.0 ^{ab}	8.7 $\pm$ 1.0 ^a	8.7 $\pm$ 1.0 ^a	8.7 $\pm$ 1.0 ^a	8.7 $\pm$ 1.0 ^a
0.001	11.2 $\pm$ 0.5 ^a	10.5 $\pm$ 1.0 ^a	7.0 $\pm$ 0.2 ^{ab}	6.1 $\pm$ 0.6 ^b	6.3 $\pm$ 0.4 ^b
0.01	9.4 $\pm$ 0.8 ^{ab}	7.3 $\pm$ 1.5 ^a	8.1 $\pm$ 0.9 ^{ab}	4.8 $\pm$ 0.6 ^b	4.5 $\pm$ 0.2 ^{bc}
0.1	7.8 $\pm$ 1.3 ^b	2.5 $\pm$ 0.5 ^b	5.8 $\pm$ 0.1 ^b	4.2 $\pm$ 0.0 ^b	3.1 $\pm$ 0.3 ^c

Data are means $\pm$ SE (n=4) and values without a common superscript letter are significantly different at $P < 0.05$.

低く、SA+CAS 群に比べ PE+CAS 群で低い傾向が認められた。飼料効率も SA+CAS 群と比べ他の 3 群で有意に低い値が得られたが、その差は大きなものではなかった。各種臓器重量においては、SA+SOY 群で心臓、肝臓および肺重量が有意に低い値が得られたが、腎臓、脾臓および脂肪組織重量においては有意差は認められなかった。これらの結果は、ラットの成長に及ぼすこれら食餌脂肪およびたん白質の影響は小さいことを示唆している。

ラット PEC のケミカルメディエーター放出能においては、SOY 群でヒスタミン放出能が低下したが、CAS 群との間に有意差は認められなかった (Table 2)。LTB₄ 放出能への影響は食餌脂肪の影響が大きく、PE+CAS 群の LTB₄ 放出能は SA+CAS 群の 44% にすぎなかった。食餌たん白質の効果は比較的弱く、SA+SOY 群の LTB₄ 放出能は SA+CAS 群の 77% であり、両者の間に有意差は認められなかった。PE+SOY 群では PE+CAS 群より低い LTB₄ 放出能が得られ、その値は SA+CAS 群の 42% であった。LTB₅

の放出は PE 群においてのみ認められ、SOY 投与により LTB₅ 放出量が若干増加する傾向にあった。

PE 群におけるロイコトリエン放出能の顕著な変化は PEC の細胞膜リン脂質の脂肪酸組成の変化に大きく依存している (未発表結果)。そこで、ラット PEC リン脂質組成に及ぼす食餌脂肪およびたん白質の影響について検討した (Table 3)。PE 群ではオレイン酸、 α -リノレン酸、エイコサペンタエン酸 (EPA) およびドコサヘキサエン酸 (DHA) の割合が有意に増加し、アラキドン酸の割合が有意に低下した。SA 群では SOY 投与によりアラキドン酸の割合が有意に減少し、LTB₄ 放出能の低下が PE 投与の場合と同様にアラキドン酸の割合の低下を通じて発現する可能性が示された。

以上の結果は、大豆たん白質が n-3 系 PUFA と同様に PEC のアラキドン酸の割合を低下させることにより LTB₄ 放出能を低下させ、抗アレルギー作用を発現する可能性を示している。細胞実験結果は大豆ペプチドは大豆たん白質と同様に LTB₄ 放出能の低下を

Table 2. Effect of dietary fats and proteins on histamine and leukotriene release from rat peritoneal exudate cells stimulated with A23187

	Histamine	LTB ₄	LTB ₅
	%	ng/10 ⁶ cells	ng/10 ⁶ cells
SA+CAS	103±10	25.6±2.7 ^a	0 ^a
SA+SOY	81±5	19.6±1.3 ^a	0 ^a
PE+CAS	92±10	11.2±1.2 ^b	6.1±1.8 ^b
PE+SOY	81±10	10.7±2.3 ^b	6.6±1.6 ^b

Data are means ± SE (n=4) and values without a common superscript letter are significantly different at $P<0.05$. SA, safflower oil; PE, perilla oil; CAS, casein; SOY, soybean protein.

Table 3. Effect of dietary fats and proteins on fatty acid composition of phospholipid in peritoneal exudate cells

	SA + CAS	SA + SOY	PE + CAS	PE + SOY
	Fatty acid (%)			
16:0	22.4±1.1	22.7±1.6	21.5±0.6	22.4±0.7
16:1	0	0	0	0
18:0	21.8±0.9	25.7±3.7	19.2±1.0	20.3±0.7
18:1n-9	12.2±0.9 ^a	11.7±1.0 ^a	15.5±0.1 ^b	17.2±1.2 ^b
18:2n-6	8.4±0.7	10.3±1.6	7.4±0.3	8.2±0.3
18:3n-3	0 ^a	0.2±0.1 ^a	1.5±0.1 ^b	1.6±0.3 ^b
20:4n-6	14.5±0.7 ^a	10.9±1.6 ^b	9.4±0.6 ^b	7.9±0.8 ^b
20:5n-3	0 ^a	0 ^a	3.9±0.2 ^b	3.7±0.2 ^b
22:6n-3	0 ^a	0.6±0.4 ^{ab}	1.0±0.2 ^b	0.7±0.2 ^{ab}

Data are means ± SE (n=4) and values without a common superscript letter are significantly different at $P<0.05$. SA, safflower oil; PE, perilla oil; CAS, casein; SOY, soybean protein.

誘導しうることを示しており、生理活性ペプチドの単離および構造決定が今後の課題である。

要 約

食物アレルギーの発症と多価不飽和脂肪酸代謝は密接に関係しているが、大豆たん白質およびその分解物である大豆ペプチドがこの代謝に干渉することが知られている。そこで、大豆たん白質およびペプチドのアレルギー調節作用について検討した。まず、ラット腹腔滲出細胞を大豆たん白質およびペプチドの存在下でカルシウムイオノフォア刺激を行い、これらの成分が肥満細胞の LTB_4 放出を抑制することを見出した。つぎに、食餌脂肪としてサフラワー油もしくはエゴマ油を10%レベルで、食餌たん白質としてカゼインもしくは大豆たん白質を20%レベルで添加した純化食を3週間 Sprague-Dawley ラットに摂食させ、メディエーター放出能に及ぼす影響について検討した。大豆たん白群では食餌脂肪の種類によらず、腹腔滲出細胞のヒスタミンおよび LTB_4 放出能が低下する傾向が認められ、大豆たん白質の摂取がアレルギー応答を低減する可能性が示された。

文 献

- 1) 山田耕路, 高杉美佳子, 菅野道廣(1995): 食物中に存在するアレルギー調節因子。「低アレルギー食品の開発と展望」, 池澤善郎編, シーエムシー, 東京, pp. 83-90
- 2) 山田耕路, 松尾哲孝, 菅野道廣(1997): 食品中のアレルギー調節因子と抗アレルギー食品の開発. 食品と開発, **32**(2), 4-7.
- 3) Ikeda A, Wakamatsu K, Umeda T, Shikada S, Ikeda I, Imaizumi K and Sugano M (1994): Effects of dietary protein and fat on linoleic and α -linolenic acid metabolism and prostacyclin production in stroke-prone spontaneous hypertensive rats. *J Nutr Biochem*, **5**, 248-255.
- 4) Matsuo N, Yamada K, Yamashita K, Shoji K, Mori M and Sugano M (1996): Inhibitory effect of tea polyphenols on histamine and leukotriene B_4 release from rat peritoneal exudate cells. *In Vitro Cell Develop Biol*, **32**, 340-344.
- 5) Ikeda I, Tomari Y and Sugano M (1989): Inter-related effect of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption. *J Nutr*, **119**, 1383-1387.